

on the 10th day. The av chain length detd by periodate oxidn was ~11. Thus, the reserve polysaccharide of *A. furfuraceus* has a highly branched structure similar to that of liver glycogen.

95 165222y **Acid proteinases in various species of cellular slime mold.** Kost, Rhonda G., North, Michael J., Whyte, Anne (Dep Biochem, Univ Stirling, Stirling, Scot FK9 4LA) *Exp Mycol* 1981, 5(3), 269-77 (Eng). The proteolytic activities of the cellular slime molds *Dictyostelium mucoroides*, *D. purpureum*, *Polysphondylium pallidum*, and *P. violaceum* were examd. Myxamebas possessed activity against Hide Powder Azure at pH 2-5 that was enhanced by dithiothreitol, this enhancement was small in *Dictyostelium* species but 3-4-fold in the *Polysphondylium* species. Following electrophoresis on polyacrylamide gels contg denatured Hb, 5 proteinases could be detected in each species. Activity against Hide Powder Azure was inhibited severely by HgCl₂ and to a lesser extent by other thiol proteinase inhibitors, such as *N*- α -*p*-tosyl-L-lysine chloromethyl ketone-HCl, antipain, and leupeptin. Inhibitors of aspartyl and serine proteinases had no effect. All proteinases visualized on gels were inhibited by HgCl₂, and some, but not the major 1 of each species, were sensitive to the other thiol proteinase inhibitors. Exts of fruiting bodies retained acid proteolytic activity. New proteinases were detected in *D. mucoroides*, there was a relative increase in 1 proteinase in *P. violaceum*, but 3 proteinases were lost during fruiting body formation in *P. pallidum*. During microcyst formation in *P. pallidum*, there was a decrease in proteolytic activity, but most of the myxamebic proteinases could be detected. Apparently, the cellular slime molds possess similar types of proteinase, but there are significant differences between the actual proteinases obsd in individual species.

95 165223z **Bacterial constituents. Part II. Phenazines from pseudomonads.** Roemer, A., Scholl, H., Budzikiewicz, H., Korth, H., Pulverer, G. (Inst Org Chem, Univ. Cologne, D-5000 Cologne, 41 Fed Rep Ger) *Z Naturforsch, B Anorg Chem, Org Chem* 1981, 36B(8), 1037-46 (Ger). The structure elucidation of several minor phenazine pigments of *Pseudomonas* is described. 4-Hydroxyphenazine-1,6-dicarboxylic acid di-Me ester, 2,3-dihydroxyphenazine, 2,3,7-trihydroxyphenazine, 4-hydroxyphenazine-1-carboxylic acid, 2,3-dihydroxyphenazine-1-carboxylic acid, 2,6-dihydroxyphenazine-1-carboxylic acid, and 2,3,7-trihydroxyphenazine-1,6-dicarboxylic acid are new phenazine derivs. The distribution of phenazines in the genus *Pseudomonas* was investigated.

95 165224a **Characteristics of the rabies virus hemagglutinin.** Kuznetsova, S. V. (Vses Nauchno-Issled Tekhnol Inst Biol Prom, Moscow, USSR) *Veterinariya (Moscow)* 1981, (7), 32-3 (Russ). A hemagglutinin (H) prepn was isolated from rabies virus propagated in BHK-21/13 cell culture by treatment with saponin followed by centrifugation in CsCl gradients. H had a high biol (hemagglutinating) activity and elicited neutralizing antibodies when injected into rabbits. H was resistant to various factors, such as, pH, temp, phenol, and β -propiolactone. The immunogenicity of H (measured by the capacity to produce neutralizing antibodies) was 8-fold greater than that of rabies vaccine prepd from intact virions. Thus, H may be used for the prodn of a highly effective and purified vaccine against rabies.

95 165225b **The molecular organization of beet necrotic yellow vein virus.** Steven, A. C., Trus, B. L., Putz, C., Wurtz, M. (Lab Phys Biol, Natl Inst Arthritis, Diabetes, Dig Kidney Dis, Bethesda, MD 20205 USA) *Virology* 1981, 113(2), 428-38 (Eng). Isolates of beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) contain rod-like virus particles of 4 different lengths. By electron microscopy in combination with optical diffraction and digital image processing methods, their structural organization was detd. All particles observe the same helical sym according to which the coat protein mols (mol wt ~ 21,000) follow a single-stranded right-handed helix of pitch 2.6 nm. This helix has an axial repeat of 4 turns, involving 49 protein subunits. The different particle lengths are apparently dictated by the 4 RNA species which compose the segmented BNYVV genome, with 4 nucleotides protected by each coat protein subunit. The spatial arrangement of BNYVV RNA, 49 residues/helical turn, pitch = 2.6 nm, is virtually identical to that of tobacco mosaic virus (TMV) RNA (49 residues/turn, pitch = 2.3 nm), although the helical packing of protein (49/3 subunits per turn) and RNA to protein stoichiometry (3 bases/subunit) of TMV are significantly different from those of BNYVV (49/4 subunits/turn and 4 bases/subunit, resp).

95 165226c **Isolation and structural analysis of influenza C virion glycoproteins.** Herler, Georg, Nagele, Arno, Meier-Ewert, Herbert, Bhowan, Ajit S., Compans, Richard W. (Inst Med Mikrobiol, Tech Univ Muenchen, Munich, Fed Rep Ger) *Virology* 1981, 113(2), 439-51 (Eng). Influenza C virions possess a single glycoprotein that is cleaved into 2 disulfide-linked subunits, gp65 and gp30. When analyzed under nonreducing conditions, the uncleaved (gpI) and cleaved (gpII) glycoproteins differ significantly in apparent mol wt, however, no difference in their tryptic peptide patterns was obsd. The glycoproteins were isolated by selective solubilization with Triton

X-100 or octylglucoside, only prepps obtained with the latter detergent showed hemagglutinating activity. In purified glycoprotein samples, gp65 was routinely obsd as a doublet on SDS-polyacrylamide gels. Anal of tryptic peptides by ion-exchange chromatog demonstrated that the 2 gp65 bands have indistinguishable polypeptide backbones, they appear to differ, however, in carbohydrate content. The uncleaved glycoprotein as well as gp65 were resistant to Edman degradn, indicating the presence of blocked amino termini, whereas gp30 had the N-terminal tripeptide sequence NH₂-Ile-Phe-Gly. This sequence is homologous to a sequence at the N termini of influenza A and B HA₂ glycoproteins, except for the presence of an addl terminal glycine residue in these viruses. The influenza C glycoproteins form a regular hexagonal lattice on the viral envelope. This arrangement is sometimes maintained in disrupted virus preps and in glycoprotein subunits released from the envelope by limited proteolysis, indicating that direct interactions between the glycoprotein mols, are responsible, at least in part, for the obsd arrangement. Observations of clustered surface projections on plasma membranes of infected cells and of released virus particles apparently devoid of internal nucleoproteins, are consistent with the suggestion that lateral interactions between the influenza C glycoproteins may be important in virus assembly.

95 165227d **The molecular weight and packaging of dsRNAs in the mycovirus from Ustilago maydis killer strains.** Bozarth, R. F., Koltin, Y., Weissman, M. B., Parker, R. L., Dalton, R. E., Steinlauf, R. (Indiana State Univ, Terre Haute IN 47809 USA) *Virology* 1981, 113(2), 492-502 (Eng). The mycoviruses of *U. maydis* killer strains are isometric, 43 nm in diam, and contain several double-stranded RNA (dsRNA) segments designated heavy (H), medium (M), and light (L) according to their relative size. To det the no of dsRNA segments per virion, major sedimenting and d components were isolated, their mol wts detd from hydrodynamic properties, and their dsRNA contents detd by electron microscopy and/or polyacrylamide gel electrophoresis. The H dsRNA segmrnts of 2.9, 3.1, and 4.2 $\times 10^6$ daltons are sep encapsidated in isometric capsids that band in CsCl at 1.383, 1.394, and 1.418 g/cm³, resp. The P1 strain contains the 3.1 and 4.2 $\times 10^6$ -dalton segments, and the 3103 strain contains the 2.9 and 4.2 $\times 10^6$ -dalton segments. The T-4 strain contains the 3.1 $\times 10^6$ -dalton H segment and 2 M segments of 0.67 and 0.60 $\times 10^6$ daltons. The H segments are sep encapsidated in virions which banded at 1.394 g/cm³, whereas the M segments are encapsidated in sets of 1, 2, or 3 in virions which banded at 1.314, 1.341, and 1.370 g/cm³. Mol wts of 9.8 and 13.0 $\times 10^6$ daltons were calcd for empty capsids (d = 1.278 g/cm³) and capsids contg the 3.1 $\times 10^6$ -dalton dsRNA segments (d = 1.394 g/cm³). Anal of components that banded at other densities in CsCl was consistent with the hypothesis that the banding pattern is the result of the encapsidation of a finite no of dsRNA segments in a capsid of 9.8 $\times 10^6$ daltons. Although 1-3 M dsRNA segments were encapsidated in a single virion, no particles were detected with >1 H dsRNA segment/virion.

95 165228e **Studies of proteinograms in dermatophytes by disc electrophoresis. I. Protein bands in relation to growth phase and nitrogen source.** Danev, P., Friedrich, E., Balabanov, V. (Inst Physiol Chem, Halle, Ger Dem Rep) *Dermatol Venerol (Sofia)* 1980, 19(2), 82-5 (Bulg). Homogenates were prepd from various growth phases of *Microrosporum gypseum* grown on different amino acids as the N source. When analyzed on 7.5% polyacrylamide disc gels, the H₂O-sol proteins in these homogenates gave essentially identical banding patterns.

95 165229f **Studies on proteinograms in dermatophytes by disc electrophoresis. II. Protein bands of keratinophilic fungi.** Danev, P., Balabanov, V., Friedrich, E. (Inst Physiol Chem, Halle, Ger Dem Rep) *Dermatol Venerol (Sofia)* 1980, 19(2), 86-9 (Bulg). Polyacrylamide disc gel electrophoresis showed identical protein banding patterns for morphol uniform strains of the keratinophilic fungi *Chrysosporium keratinophilum*, *Microrosporum audouinii*, *M. langeroni*, *M. vanbreuseghemii*, *Trichophyton mentagrophytes*, and *T. quinqueanum*. Strains of *T. quinqueanum* which differed morphol also had different protein banding patterns. The banding patterns of fungi belonging to the same genus were species specific.

95 165230z **Phytotoxic secondary metabolites of *Mycosphaerella ligulicola*** Baker et al. Assante, G., Camarda, L., Nasini, G., Merlino, L. (Inst Patol Veg, Univ Milano, Milan, Italy) *Phytopathol Mediterr* 1980, 19(2-3), 163-4 (Eng). *M. ligulicola* was grown for 16 or 30 days on a Sabouraud-maltose medium. Two metabolites, (+)-epoxydon (I) (182 mg) and (+)-epoxydon monoacetate (II) (30 mg), were extd from 16-day cultures. When the fungus was grown for 30 days, 2 other metabolites, III (30 mg) and IV (5 mg), could also be isolated. NMR, IR, mass spectroscopy, and optical rotation data were used to det the structure of these phytotoxic secondary metabolites.

ТМ 77096
(720-89).

W84-20127

**ИЗСЛЕДВАНИЯ ВЪРХУ ПРОТЕИНОГРАМИТЕ ПРИ ДЕРМАТОФИТИ;
С ПОМОЩТА НА ДИСКОВАТА ЕЛЕКТРОФОРЕЗА**

Zili. Сурз

II. Протеинови ивици при различни кератинофилни гъби

П. ДАНЕВ, В. А. БАЛАБАНОВ, Е. ФРИДРИХ

Институт по физиологична химия, директор проф. д-р Аурих,
МА — София, Научен институт по дерматология и венерология,
директор проф. д-р П. Михайлов
Кожна клиника, директор проф. д-р Валтрауд Браун при университета
«Мартин Лутер», гр. Хале, ГДР

Кератинофилността на някои представители от класа на Fungi imperfecti и по-специално от семейството на Gymnoascaceae, към които принадлежат и важните за патологията дерматофити, както и начинът на атакуването на косъма, са били обект на проучване още в края на миналото столетие (1894 г.). По-задълбочени и системни проучвания върху кератинолизата като физиологична основа на патогенното действие на дерматофитите с все по-съвършени методи започнаха през ерата на геодерматофитите. Те бяха предшествувани от биохимични изследвания върху разграждането на кератина на вълната и освобождаването на аминокиселини при въздействието на *M. gypseum* върху космен кератин. Установи се също, че в клетъчната мембрана на някои пъпкуващи гъбички се съдържат от 5 до 15% аминоксептидази, докато остатъкът се намира на вътрешната страна на мембраната и в ендоплазмата. Беше доказано, че патогенните видове в сравнение със сапрофитните показват тенденция към все по-инсуфициентен комплекс от ензими в зависимост от степента на биологичната им диференциация (вж. В. А. Балабанов: „Клинична медицинска микология“, стр. 124–125 изд. „Медицина и физкултура, 1975“^{3, 6а, 7}), налагащ добавка на факторите на растеж при тяхното култивиране^{3, 6а, 7}.

Доказването на комплекса от ензими и други протеини може да се извърши с помощта на дисковата електрофореза, която от своя страна представлява чувствителна метода за изясняване на сродните връзки между различните таксономични единици на кератинофилните гъбички.

Дисковата електрофореза бе въведена от Davis и Ornstein^{8, 9, 10, 11, 12, 17, 18} през 60-те години. Тя се използва за разделяне на електрически неутрални биологични макромолекули, като напр. протеини или нуклеинов киселини. Като матрица служи полиакриламид с различна степен на омекване.

Предимството на тази техника се състои в използването на подходящ буферен разтвор с различна киселинност (pH) на разделителната среда, което води до силно концентриране на подлежащата на разделяне субстанция. В резултат на това се извършва рязко разделяне на отделните фракции една от друга. След фиксирането и оцветяването върху полиакриламидния гел те се открояват като ясни, тесни ивици. Като пример за голямата разделителна способност служи разделянето на серумни протеини, при които с помощта на хартиената електрофореза или тази върху целулозно-ацетиленово фолио могат да се разделят на четири, а с дисковата електрофореза — до 20 различни протеинови фракции. В литературата е известна поредица от примери, при които с помощта на тази метода са изготвени карти с протеинови фракции на микроорганизми, клетъчни органели и други протеинови смеси^{13, 14, 15}. По общоприето мнение тази метода е изключително

подходяща за характеристика на хетерогенни белтъчни извлекци (сравняване на протенинови ивици).

Ние си поставихме за цел да сравним ивиците на разтворимите във вода мицелни протенини от различни дерматофити, респ. кератинофилни гъби, за което в рамките на тази публикация изнасяме нашите първи резултати.

Методика. При нашите изследвания бяха представени ферограмите на следните щамове гъби.

1. <i>Chrysosporum keratinophilum</i>	(658/68)
2. <i>Chrysosporum keratinophilum</i>	(1045/72)
3. <i>Microsporium audouinii</i>	(621/69)
4. <i>Microsporium audouinii</i>	(850/60)
5. <i>Trichophyton quinckeanum</i>	(1390/75 — Sofia)
6. <i>Trichophyton quinckeanum</i>	(1692/74 — Halle)
7. <i>Trichophyton quinckeanum</i>	(Erfurt)
8. <i>Microsporium vanbreuseghemii</i>	(Hamburg)
9. <i>Microsporium langeronii</i>	(Erfurt)
10. <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	(Halle)

Щамове бяха изолирани в нашите лаборатории или получени от сбирката, съществуваша от 15 години. Номерирането на щамове бе извършено в тази последователност, в която те бяха използвани при нашите опити (от 1 до 14). Успоредни изследвания на мицелите от различни колби бяха означени с буквите а, б, в.

Условията за развитие на гъбната култура, обработката на мицела с цел да се получат водно разтворими мицелни протенини, както и условията, при които протича дисковата електрофореза, отговарят на тези, представени в първото съобщение (P. Danev, E. Friedrich, V. A. Balabanoff, *Dermatol. i. Venerol.*, Sofia, 1979, под същото заглавие или в по-ранни наши публикации^{4, 5, 6, 6a}).

Като хранителна среда използвахме описания като серия 1 глюкозно-солен разтвор с пет аминокиселини⁷.

Изследванията бяха извършени в този момент, когато плаващият върху хранителната среда мицел образува сравнително затворен слон. Въз основа на нашия слит този стадий на развитие отговаря на късната log-фаза⁷.

Резултати

При изследванията на морфологично еднородни щамове от един и същ вид гъби бяха получени сходни белтъчни ивици. Като доказателство на тези резултати представяме на прил. 1 ферограмите на два щама от *Chrysosporum keratinophilum* и на прил. 2 и 3 ферограмите на два различни изолати от *Microsporium audouinii*. Двата примера дават ясна представа за сходството на протениновите ивици относно положението и интензитета.

От друга страна, протениновите фракции на наши щамове от *Trichophyton quinckeanum* се различават по подвижност и интензитет, при които обаче се наблюдава натрупване на ивици в областта между 2 и 5 см от старта. (прил. 4, 5, 6). При тези организми е познато голямо морфологично разнообразие. Щамове, които ние изследвахме, бяха също нееднородни. Затова е необходимо да се провери в каква степен протениновите ивици корелират с определени морфологични структури. Следващата наша задача е да сравним протениновите ивици на рода *Microsporium* на основата на ферограмите от *M. vanbreuseghemii* (прил. 7), *M. langeronii* (прил. 8) и *M. audouinii* (прил. 3). При тях от пръв поглед не се забелязва нищо обединяващо. Броят, диспозицията и яснотата на ивиците са различни при всяка фигура (прил. 9).

Дискусия

Резултатите от първата публикация (P. Danov, E. Friedrich, V. A. Balabanoff: *Dermatol. i Venerol.*, Sofia, 1980) дават основание да се предположи, че протеиновите фракции при гъбите не се влияят значително нито от стадия на развитие, в който те се намират при изследванията, нито от състава на аминокиселините като източник на азот.

Могат да бъдат наблюдавани известни различия предимно от качествен характер. За да могат резултатите да бъдат представени достатъчно убедително, особено важно е качеството по изготвяне на снимките.

При нашите следващи изследвания е необходимо да се отдели особено внимание върху подобряването на фотографската техника. Въпреки известни технически затруднения ние успяхме, от една страна, да представим съответствието на протеиновите ивици при различните морфологически еднородни щамове от един и същ вид и, от друга страна, да разясним очебителните различия в протеиновите ивици при различни видове на рода *Microsporum*. От особен интерес са различията в протеиновите ивици на *M. langeronii* в сравнение с тези на други видове *Microsporum*.

Особено очебитно е наличието на четири различни, ясно очертани ивици в областта между 1,0 и 2,5 см само при *M. langeronii*.

Във връзка с нашите проучвания върху *T. quinckeapum* като отделен вид, а не като вариетет на *T. mentagrophytes* трябва да отбележим, че с тези изследвания още не се установява сходството между протеиновите ивици на двата вида.

Тъй като именно при кератиофилните гъбички стоят открити много таксономични въпроси, нашите първи резултати ни дават основание да продължим изследванията си с оглед да се използват протеиновите електроферограмни картини на тези гъби като показател при установяване на родствени връзки между тях.

Обобщение

Изследванията върху кератиофилните гъбички с помощта на дисковата електрофореза показаха съответстващи протеинограми при морфологично еднородни щамове от един и същ вид, но различни при различните видове на един и същ род*.

Книгопис. 1. Ajello, L. *Scbauraudia* 6, 1967, 147—159 — 2. Balabanoff, V. A. *Mycosen*, 11, 1968, 2, 127—142 — 3. Balabanoff, V. A. *Mycobia*, Nancy 1, 1973, 1, 5—22 — 4. Danew, P., E. Friedrich, H. Mannsfeldt — *G. Derm. Wschr.* 157, 1971, 232—238 — 5. Danew, P., E. Friedrich, Mannsfeldt, H. G. M. Iwig. *Derm. Wschr.*, 158, 1972, 878—883 — 6. Danew, P., E. Friedrich, M. Iwig, H. Hanson. *Mycosen*, 17, 1974, 179—189. 6a. Danew, P., Balabanoff, V. A., Friedrich, E. *Congressus Secundus Dermatologicus Bulgariae*, X, 1975, 104, № 189. — 7. Danew, P., E. Friedrich, V. A. Balabanoff

* Особена благодарност изказваме на Шарлотте Рикус и Ингрид Цернале за ценната техническа помощ, на Бербел Данева — за подготовката на фигурите и на Ингрид Зенгер за фотографите.

- Dermatol i venerol*, Sofia, No 1, 1980. — 8 Davis, B J Enzyme Analysis, 3b, Canaco, 1963. — 9 Davis, B J Annals N. Y Acad Sci., 121, 1964, 404. — 10 Davis, C H, R B O'Is g a a d, E H Fisher, C O Krebs *Federation Proc*, 23, 1964, 488
- 11 Davis, G M Canaco Abstr, 1966, 349 — 12 Davis, G M, G Lindsay Ann Rep Amer. Mycological Union 20, 1964. — 13 Fox, D. J., D. A Thurman, D Boulter *Biochem J.*, 87, 1963, 29 — 14 Fox, D. J., D A Thurman, D Boulter *Phytochemistry*, 3, 1965, 417 — 15 Hayman, M North Holland Publ Co, Amsterdam, 242, 1964. — 16 Male, O, P Fritsch, *Mycology*, 11, 1963, 313—323 — 17 Ornstein, L Enzyme Analysis, C 8 Canaco, 1963 — 18 Ornstein, L *Annals N Y Acad Sci.*, 121, 1964, 321.

П. Денев, В А Балабанов, Е Фридрих — Исследование протениграмм дерматофитов при помощи дискового электрофореза
II. Протениновые полоски у различных кератинофильных грибов

Резюме. При исследовании кератинофильных грибов при помощи дискового электрофореза выявили соответствующие протениграммы у морфологически однородных штаммов одного и того же вида, но различные — у различных видов одного и того же рода.

Dr. med. P. Danev, Kandidat der biologischen Wissenschaften, Facharzt für Dermatologie und Facharzt für Biochemie, Prof. Dr. med. V. A. Balabanoff Dr. Sc., Dr. rer. nat. E. Friedrich, Oberassistentin.

Disc-electrophoretische Untersuchungen über Proteinmuster bei Dermatophyten
II. Proteinmuster verschiedener keratinophiler Pilze

Zusammenfassung Disc-elektrophoretische Untersuchungen an keratinophilen Pilzen ergaben übereinstimmende Proteinmuster bei morphologisch einheitlichen Stämmen derselben Pilzart, aber unterscheidbare Proteinmuster bei verschiedenen Arten derselben Gattung.

P. Danev, V. Balabanoff, E Friedrich — Studies of Proteinograms in Dermatophytes by Disc Electrophoresis. II. Protein Strips in Keratinophilic Fungi

Summary Disc electrophoresis studies on keratinophilic fungi demonstrated corresponding proteinograms in morphologically homogenous strains of the same species, but different in different species of one and the same genus

Дерматол и венерол — XIX, 1980, № 2
Dermatol i venerol — XIX, 1980, No 2

Поступила — май 1979
Received — May 1979